



РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК



ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ВНУТРЕННИХ ВОД

ИМ. И.Д. ПАПАНИНА РАН



РОССИЙСКИЙ ФОНД ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ



**ДЕПАРТАМЕНТ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЯ
ЯРОСЛАВСКОЙ ОБЛАСТИ**

АНТРОПОГЕННОЕ ВЛИЯНИЕ НА ВОДНЫЕ ОРГАНИЗМЫ И ЭКОСИСТЕМЫ

МАТЕРИАЛЫ

**V ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ПО ВОДНОЙ ЭКОТОКСИКОЛОГИИ,
ПОСВЯЩЕННОЙ ПАМЯТИ Б.А. ФЛЕРОВА**

И

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СОСТОЯНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

МАТЕРИАЛЫ

ШКОЛЫ-СЕМИНАРА ДЛЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ, АСПИРАНТОВ И СТУДЕНТОВ

Борок, 28 октября - 1 ноября 2014 г.

ТОМ 2

Таким образом, можно сделать вывод, что показатель флуоресценции органических веществ, вероятно, целесообразнее исследовать при помощи регрессионного анализа, однако для корректного анализа необходимо увеличить число наблюдений до 200. При наличии же ограниченного набора данных целесообразнее использовать метод ЛЭН. Для максимального уровня флуоресценции пробы и других скоррелированных с ним показателей флуоресценции метод ЛЭН позволяет лучше описать зависимость от факторов среды в сравнении с корреляционным и регрессионным анализом.

Работа частично поддержана грантами РФФИ № 14-04-00143, 13-04-01027.

Список литературы

1. Данные совместных измерений биологических и физико-химических характеристик экосистемы Рыбинского водохранилища / Бикбулатов Э.С., Бикбулатова Е.М., Бобырев П.А., Булгаков Н.Г., Ершов Ю.В., Конюхов И.В., Копылов А.И., Корнева Л.Г., Лазарева В.И., Левич А.П., Литвинов А.С., Масленникова Т.С., Митропольская И.В., Осипов В.А., Отюкова Н.Г., Поддубный С.А., Пырина И.Л., Рисник Д.В., Рожков Г.В., Соколова Е.А., Степанова И.Э., Цельмович О.Л. // – М.: МАКС Пресс, 2014 (в печати)
2. Определение состояния растений и водорослей по флуоресценции хлорофилла / Маторин Д.Н., Осипов В.А., Яковлев О.В., Погосян С.И. // – М.: МАКС Пресс, 2010. – 116 с.
3. Маторин Д.Н., Осипов В.А., Рубин А.Б. Методика измерений обилия и индикации изменений состояния фитопланктона в природных водах флуоресцентным методом. Теоретические и практические аспекты. – М.: Альтекс, 2012. – 136 с.
4. Green, S. B. How many subjects does it take to do a regression analysis? // *Multivariate Behavioral Research*, 26, 1991. – P. 499-510.
5. Методические проблемы анализа экологических данных и пути их решения: метод локальных экологических норм / Левич А.П., Булгаков Н.Г., Рисник Д.В., Милько Е.С. // Доклады по экологическому почвоведению. – 2013. – Т. 18. № 1. – С. 9–22.
6. "In situ"-технология установления локальных экологических норм / Левич А.П., Булгаков Н.Г., Максимов В.Н., Рисник Д.В. // Вопросы экологического нормирования и разработка системы оценки состояния водоемов. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011. – С. 32-57.
7. Чесноков С. В. Детерминационный анализ социально-экономических данных. – М.: Наука, 1982. – 168 с.

УДК 577.161.6

ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИЙ ЧЕРНОМОРСКИХ ХРЯЩЕВЫХ РЫБ К УСЛОВИЯМ ЗАГРЯЗНЕНИЯ

И.И.Руднева¹, Н.С. Кузьмина¹, Е.Н. Скуратовская¹, И.И. Дорохова¹, С.О. Омельченко²

¹*Институт биологии южных морей*

299011, Севастополь, пр. Нахимова, 2, Россия, svg@mail.ru

²*Крымское государственное научно-производственное предприятие*

«Центр стандартизации, сертификации и метрологии»,

235600, Симферополь, ул. Крымской Правды, 61, Россия

Рассмотрены механизмы биохимической адаптации хрящевых рыб Черного моря, обитающих в условиях загрязнения морской среды. Показано модифицирующее действие загрязнения на биомаркеры печени и крови трех видов элазмобранхий.

Ключевые слова: антиоксиданты, аминотрансферазы, тяжелые металлы

В настоящее время в мире насчитывается около 500 видов хрящевых рыб. Исследование их физиолого-биохимических характеристик представляет особый интерес для выяснения основных закономерностей эволюции и адаптаций морских организмов к условиям обитания. Изменение климата, загрязнение морской среды в результате хозяйственной деятельности человека, а также перелов крайне негативно отразились на популяциях элазмобранхий и привели к снижению их численности, биоразнообразия, ухудшению физиологического состояния и воспроизводства [1]. В связи с этим изучению морских хрящевых рыб уделяется в настоящее время повышенное внимание с целью разработки мероприятий по их охране, организации рационального вылова или запрета на него в случае малочисленных или исчезающих видов.

Хрящевые рыбы обладают рядом особенностей, которые делают их весьма уязвимыми к изменениям среды обитания. У них отсутствует плавательный пузырь, система формирования костной

ткани, в их крови содержится большое количество мочевины и оксида триметиламина (ТМО), обеспечивающих осморегуляцию. Помимо этого, они характеризуются медленными темпами размножения и развития эмбрионов. Поскольку хрящевые рыбы относятся к древним организмам, то исследование их адаптаций к современным условиям, где существенным фактором является влияние на природные сообщества хозяйственной деятельности человека, представляется важным и актуальным. Кроме того, если отклики костистых рыб на действие загрязнения изучены достаточно подробно, то хрящевым в этом плане уделено значительно меньше внимания, несмотря на то, что в последнее время наблюдается резкое сокращение их численности и биоразнообразия.

В Черном море обитают три вида хрящевых рыб – акула катран *Squalus acanthias* и два вида скатов морская лисица *Raja clavata* и морской кот *Dasyatis pastinaca*, уловы которых сокращаются в последнее время. Исследуемые виды характеризуются разными экологическими особенностями. Скаты относятся к бентосным организмам, обитающим в придонных слоях воды, часто зарываются в песок и ведут малоподвижный образ жизни. Акула-катран принадлежит к придонно-пелагическим активно плавающим видам. Все три вида – хищники, спектр питания которых одинаков и включает мелких рыб, моллюсков, ракообразных [2].

Цель настоящей работы - анализ некоторых биомаркеров крови и печени хрящевых рыб Черного моря, обитающих в акваториях, подверженных антропогенному влиянию. В качестве такой акватории была выбрана Севастопольская бухта, экологическое состояние которой достаточно хорошо изучено, в том числе проанализированы экотоксикологические аспекты на примере массовых видов костистых рыб [3].

Исследовали три вида хрящевых рыб Черного моря, отловленных в прибрежных водах Севастополя: акула катран *S. acanthias*, морская лисица *R. clavata* и скат-хвостокол *D. pastinaca*, относящиеся к разным экологическим группам, как было отмечено выше. Уровень токсичных элементов меди, свинца, кадмия, цинка, ртути и мышьяка определяли в мышечных тканях рыб атомноабсорбционным методом. Анализировали биомаркеры печени и крови рыб: активность антиоксидантных ферментов (СОД, КАТ, ПЕР и ГР), аминотрансфераз (АЛТ и АСТ), холинэстеразы, а также определяли содержание олигопептидов в исследуемых тканях согласно стандартным методам.

Результаты обрабатывали статистически, используя ANOVA, корреляционный анализ между значениями исследованных показателей осуществляли с помощью стандартной компьютерной программы CURVEFIT.

Исследования показали, что содержание токсичных элементов в тканях хрящевых рыб различается (Таблица 1). Их уровень в мышцах рыб распределялся следующим образом $Zn > As > Cu > Pb > Hg > Cd$. При этом для большинства исследованных элементов он выше в тканях скатов по сравнению с акулой. Это обусловлено большим загрязнением придонных слоев воды и грунтов, а также пищи, которой питаются бентосные скаты. В дальнейшем представлял интерес сравнить биомаркеры трех видов хрящевых рыб и соотнести их значения с уровнем накопленных токсичных элементов в тканях.

Таблица 1. Содержание токсичных элементов в мышцах хрящевых рыб Черного моря ($mg\ kg^{-1}$, $M \pm m$)

Токсичные элементы	Виды			ПДК
	<i>Squalus acanthias</i>	<i>Dasyatis pastinaca</i>	<i>Raja clavata</i>	
Cu	0,32±0,02	0,41±0,01	0,36±0,01	10,0
Pb	0,23±0,01	0,36±0,1	0,22±0,01	1,0
Cd	0,015±0,003	0,015±0,005	0,015±0,005	0,2
Zn	4,15±0,04	4,6±0,3	4,0±0,2	40,0
As	1,52±0,12	4,52±0,4	2,06±0,1	5,0
Hg	0,18±0,01	0,26±0,06	0,25±0,04	0,4
Всего	6,41±1,60	10,16±2,20	6,90±1,50	-

Обнаружены существенные вариации значений биомаркеров крови и печени элазмобранхий, имеющих выраженный тканеспецифический характер. Так, активность антиоксидантных ферментов в печени скатов была выше, чем в печени акулы (Рис. 1). Активность СОД и каталазы проявляла такую же тенденцию в крови исследуемых видов, однако активность пероксидазы и глутатионредуктазы имела противоположную направленность.

Не были установлены корреляции между активностью антиоксидантных ферментов в печени и содержанием токсичных элементов в мышцах рыб, за исключением ртути. При этом уравнение регрессии было нелинейным и выражалось формулой

$$Y = X/(AX + B),$$

где Y - значение активности фермента (в соответствующих единицах $\cdot \text{мг}^{-1} \text{белка} \cdot \text{мин}^{-1}$), X – концентрация ртути ($\text{мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ сырой массы), A и B – коэффициенты, зависящие от активности фермента.

Коэффициенты корреляции между содержанием ртути и активностью различных антиоксидантных ферментов имели близкие значения. Так, например, корреляция между содержанием ртути и активностью СОД составила $r=0.95$, между уровнем Hg и активностью каталазы 0.78, для пероксидазы и глутатионредуктазы корреляции были $r=0.84$ и $r=0.98$ соответственно. Липофильные свойства метилртути способствуют ее проникновению через мембрану клетки, что приводит к ее повреждению, в том числе в результате индукции перекисного окисления липидов и особенно ПНЖК. Ртуть обладает способностью быстро накапливаться в тканях и практически не выводится из них [4]. При этом Hg взаимодействует с SH-группами белков и инактивирует их. Можно предположить, что накопление ртути в тканях рыб оказывает существенное влияние на состояние антиоксидантной системы и модифицирует окислительно-антиоксидантный баланс у хрящевых рыб.

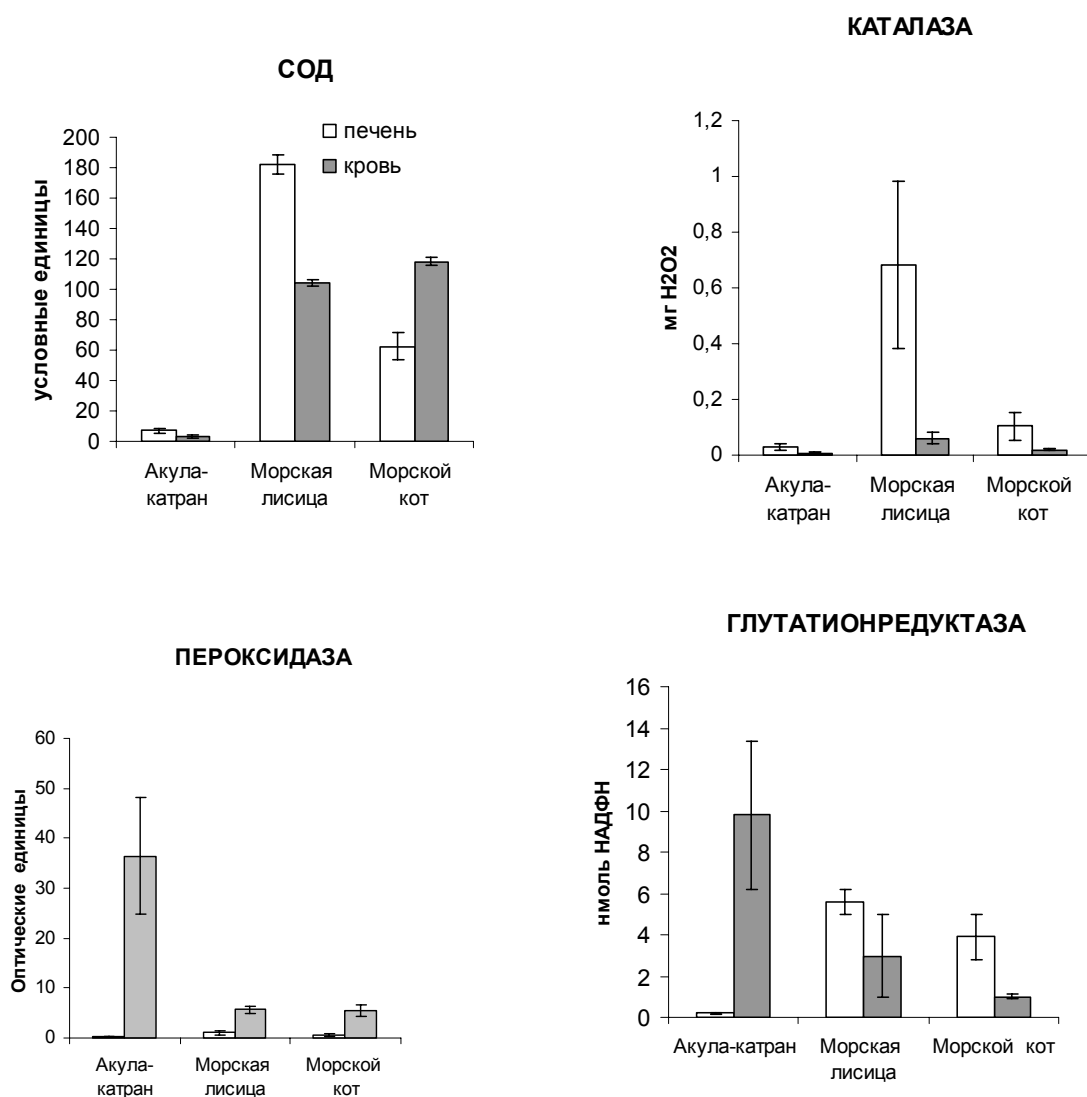


Рис. 1. Активность антиоксидантных ферментов в печени и крови хрящевых рыб Черного моря ($\text{мг} \cdot \text{белка}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, $M \pm m$)

Не было обнаружено значительных различий в активности холинэстеразы в печени рыб, также как не были установлены существенные корреляции между активностью фермента в печени и содержанием токсичных элементов в тканях.

Содержание олигопептидов, характеризующих уровень эндогенной интоксикации, в печени рыб значительно превышало их концентрацию в крови (Рис. 2). При этом данный показатель был существенно выше в тканях морской лисицы по сравнению с показателями двух других исследуемых видов.

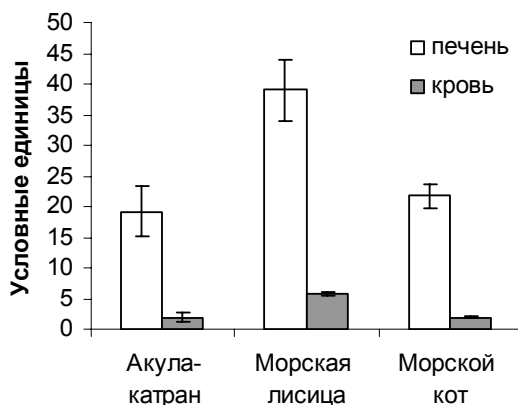


Рис. 2. Содержание олигопептидов в печени и крови хрящевых рыб Черного моря (10^{-3} мг белка¹, $M \pm m$)

Следует отметить, что информация об этих компонентах в тканях рыб практически отсутствует, хотя представляет определенный интерес, так как олигопептиды образуются в результате реакций деградации белков, в том числе и при биотрансформации их поврежденных форм [5]. При этом наблюдаемые различия в содержании этих компонентов у трех исследуемых видов могут быть связаны с особенностями биотопа, так как акула-катран и морской кот обитают на меньших глубинах (100-180 м), тогда как морская лисица – на глубине 200 м и более [2]. Была отмечена высокая корреляция ($r=0.82$) между активностью холинэстеразы и уровнем олигопептидов в печени рыб. Влияние глубины обитания на исследуемые биохимические показатели обнаружены и другими исследователями [6]. Можно предположить, что олигопептиды могут выполнять роль трансммиттеров в тканях эласмобранхий, так как среди них достаточно много биологически активных компонентов. Не исключено, что наряду с мочевиной и ТМО они также могут участвовать в осморегуляции хрящевых рыб.

Установлены межвидовые различия активности аминотрансфераз в тканях эласмобранхий: в печени акулы активность АЛТ и АСТ была выше, чем у скатов, тогда как в крови наибольшие значения активности ферментов отмечены у морской лисицы (Рис. 3). Обнаружена выраженная отрицательная корреляция между содержанием ртути и активностью АЛТ и АСТ в печени ($r=0.72$ and $r=0.62$ соответственно). Можно предположить, что накопление ртути в тканях рыб приводит к связыванию металла с SH-группами белков и ферментов, что в значительной степени ингибирует их активность.

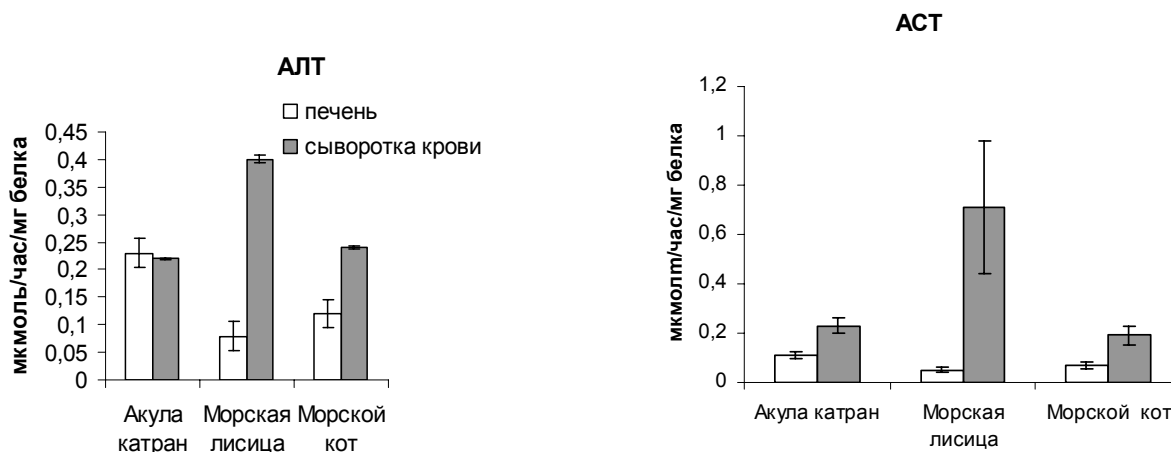


Рис. 3. Активность аминотрансфераз в печени и в сыворотке крови хрящевых рыб Черного моря ($M \pm m$)

Таким образом, выявленные существенные видовые различия трех исследуемых хрящевых рыб Черного моря во многом определяются как особенностями их экологии, существованием в разных биотопах, так и уровнем загрязнения последних. Специфические условия Черного моря (наличия анакисической зоны, повышенные концентрации сероводорода, высокий уровень загрязнения) в значительной степени модифицируют эволюционно сложившиеся биохимические адаптации хрящевых рыб, анализ которых имеет важное прогностическое значение для разработки мероприятий по их охране.

Список литературы

1. Treberg J. R., Martin A.R., and Driedzic W. R. Muscle Enzyme Activities in a Deep-Sea Squaloid Shark, *Centroscyllium fabricii*, Compared With Its Shallow-Living Relative, *Squalus acanthias*. J. Exp. Zool. 2003. V. 300A. P.133-139.
2. Световидов А.Н. Рыбы Черного моря. Из-во Наука, Ленинград. 1964. 552 с.
3. Rudneva, I.I. Ecotoxicological studies of the Black Sea ecosystem. The Case of Sevastopol Region. Nova Science Publishers, Inc. NY.2011. 62 pp.
4. Storelli M.M., Giacominielli - Stuffer R., Storelli A., Macotrigiano G.O., Accumulation of mercury, cadmium, lead and arsenic in swordfish and blufin tuna from the Mediterranean Sea: a comparative study. Mar. Pollut. Bull. 2005. V.50. P. 903-1007.
5. Van der Oost R., Beyer J., Vermeulen N.P.E., Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environmental Toxicology and Pharmacology. 2003. V. 13. P. 57-149.
6. Solй M, Baena M, Arnau S, Carrasson M, Maynou F, Cartes JE. Muscular cholinesterase activities and lipid peroxidation levels as biomarkers in several Mediterranean marine fish species and their relationship with ecological variables. Environ Int. 2010. V.36 (2). P. 202-211.

УДК 546:597.554:547.963.3

РОЛЬ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА В ПРОЦЕССЕ АДАПТАЦИИ РЫБ К ДЕЙСТВИЮ ИОНОВ МЕТАЛЛОВ

Ю.И. Сеник, Б.З. Ляврин, В.Я. Бияк, В.А. Хоменчук, В.З. Курант

*Тернопольский национальный педагогический университет им. Владимира Гнатюка
г. Тернополь, Украина*

Исследованы особенности белкового обмена у карпа под действием ионов марганца, цинка, меди и свинца. Установлена важную роль белкового обмена в процессах адаптации организма рыб к воздействию повышенных концентраций ионов металлов.

Ключевые слова: карп, ионы металлов, белковый обмен, адаптация.

Ионы металлов, поступающие в окружающую среду из антропогенных источников загрязнения, существенно влияют на состояние водных экосистем. Это проявляется в увеличении их содержания в воде, донных отложениях и биоте, что ведет к снижению продуктивности водных экосистем и к потенциальной опасности для человека.

Функционально соединения металлов играют важную роль в жизнедеятельности всех организмов, в том числе и гидробионтов. Входя в состав многих органических веществ, или вступая с ними во взаимодействие, они влияют на протекание многих биохимических процессов. Ионы металлов способны образовывать в тканях животных прочные связи с различными биологически активными центрами, в частности, с серосодержащими лигандами, которые могут содержаться в белках и аминокислотах. В значительной мере их действие связано с ферментами, которые содержат в своем составе ионы металлов, или активируются ими [5].

Как микроэлементы, металлы влияют на выполнение белками их разнообразных функций, информационную способность нуклеиновых кислот и на другие важные биохимические процессы [7]. Такое воздействие может быть стимулирующим, подавляющим или нейтральным, в зависимости от природы металла, концентрации и формы его нахождения в воде.

Повышение уровня загрязнения пресных водоемов требует поиска объективных методов биомониторинга, а также разработки эффективных протекторов к действию различных токсикантов и средств коррекции биопродуктивных процессов у гидробионтов. Для успешного решения этих задач необходимо глубокое изучение механизмов поддержания функциональной активности организма путем компенсаторно-адаптивных реакций ответа на действие факторов водной среды.